



Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Katedra analytické chemie

Albertov 6, 128 43 Praha 2

IČO: 00216208, DIČ: CZ-00216208

tel.: 221 951 111, Fax: 224 913 538

V Praze, 4. 8. 2015

Oponentský posudek disertační práce

CARBON ELECTRODE MATERIALS IN THE ANALYSIS OF VITAMINS WITH ANTIOXIDANT PROPERTIES

Autor: Ing. Milan Sýs

Předložená disertační práce sestává z 86 stran vlastního textu včetně literatury a 45 stran části příloh se 5 publikovanými původními sděleními v odborné literatuře a 4 stranami seznamu výstupů disertanta. Disertační práce je psána v jazyce anglickém, její struktura práce odpovídá zvyklostem v oboru, je členěna do logických částí. Text práce je napsán srozumitelně, byť obsahuje větší množství překlepů, ne úplně správných anglických vyjádření a určitých gramatických nedostatků, které ale nejsou zásadního charakteru a v podstatě nesnižují odbornou úroveň práce.

Po stručném všeobecném úvodu a cílech práce již následují tři experimentální kapitoly věnované amperometrickým enzymovým biosensorům pro analýzu polyfenolů, dále elektrochemickému studiu vitamínu C a extrakci lipofilních vitamínů do uhlíkové pasty. Každá z těchto experimentálních kapitol obsahuje teoretickou část a na konci pak vybrané dosažené výsledky. Teoretická část u kapitoly I se na první pohled zdá být zbytečně obsáhlou, kdy podrobně popisuje i biosensory apod., jež vůbec nebyly předmětem disertace, ale na druhou stranu zase ukazuje, že autor je v celé této oblasti dobře orientován. Nakonec naměřené výsledky jsou podrobně popsány v přiložených oxeroxovaných výstupech a jejich další popis by byl duplicitní. Seznam literatury je u všech tří kapitol dostatečně obsáhlý (u první kapitoly nejobsáhlejší), jednotlivé položky jsou aktuální a jsou citovány jednotným způsobem.

Téma disertační práce řeší problémy v oboru, zvolená instrumentace odpovídá plnění cílů disertační práce. Některé názvoslovné prohřešky jako nepoužívání všude italiky u prvků v názvech sloučenin, nějaké špatně umístěné pomlčky, chybějící písmena či sloučené názvy jednotlivých sloučenin lze přejít celkem bez obtíží.

K disertační práci mám následující poznámky, komentáře a otázky:

1. U některých uváděných obrázků (hlavně na počátku práce) lze jen s obtížemi zjistit, zda jsou přejaté či původní čili vytvořené autorem disertace. U přejatých obrázků by toto mělo být jasně konstatováno v legendě.

2. Str. 35 vs. str. 37: u obsahu nafionu v membránách se jednalo o hmotnostní nebo objemová procenta?

3. Str. 49 dole: Přepokládám, že jde o adsorpci a nikoliv absorpci surfaktantu.

4. Obr. 21 a relevantní text: Bylo větší výhodou určité snížení LOD nebo posun oxidačního potenciálu u stanovení askorbové kyseliny na pastě s práškem Ni nebo se ZrO_2 ?

5. Obr. 23: Jak to vypadalo s linearitou kalibračních závislostí na CPE s enzymem lakasou.

6. Extrakce vitamínu do pojiva CPE je sice na jednu stranu přínosná pro snížení LOD, na druhé straně však silně omezující pro nízký počet křivek, které je možné s čerstvě připravenou pastou naměřit. Kterou pastovací kapalinu by bylo dobré doporučit pro stopové koncentrace vitamínů a kterou pro koncentrace „vyšší“?

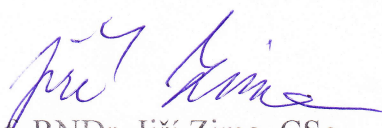
7. Co může být příčinou vzrůstu signálu analytu na pastě se silikonovým olejem?

8. Obr. 35a: Bylo vůbec možné měřit křivky α -TOH při 35 a 40 % pastovací kapaliny? Která to pro tento obrázek konkrétně byla?

9. Obr. 36: Legenda k obrázku je neúplná.

Závěrem chci konstatovat, že předložená disertační práce Ing. Milana Sýse splňuje všechny nároky kladené na disertační práci v oboru analytické chemie. Stanovené cíle byly splněny a zjištěné výsledky standardně publikovány. Autor prokázal, že je schopen získat nové poznatky, vyhodnotit je a zobecnit a je schopen samostatné vědecké práce.

Rád konstatuji, že disertační práci Ing. Milana Sýse mohu doporučit k přijetí k obhajobě a dalšímu řízení.


Prof. RNDr. Jiří Zima, CSc.

OPONENTSKÝ POSUDEK

na disertační práci

Téma práce:

CARBON ELECTRODE MATERIALS IN THE ANALYSIS OF VITAMINS WITH ANTIOXIDANT PROPERTIES

Autor:

Ing. Milan SÝS

Školitel:

prof. Ing. Karel VYTRÁS, DrSc, Univerzita Pardubice

Oponent:

doc. Ing. Josef KELLNER, CSc. UO Brno

Předložená disertační práce Ing. Milana Sýse má 86 stran a 6 příloh. Práce je rozdělena kromě úvodu a závěru do třech kapitol, které se věnují řešení tří základních problémů, které disertant v průběhu doktorského studia řešil. V každé z těchto částí jsou podrobně zpracována teoretická a koncepční východiska, je stanoven cíl, resp. cíle práce, výzkumný problém, otázky a hypotézy řešení, použité metody, jejich výhody a nevýhody. Nejdůležitější částí jednotlivých kapitol je část odkazující na autorovy publikace, zejména ve vědeckých časopisech s impaktovým faktorem. V závěru každé kapitoly jsou uvedeny seznamy použité literatury (ve třech kapitolách celkem 142 titulů). Odkazy na použitou literaturu jsou vhodně doplněny v textu. V šesti přílohách jsou uvedeny nejvýznamnější publikace autora vztahující se ke třem základním řešeným problémům. Samostatně je uveden přehled publikací autora (celkem 17 titulů, z toho 5 publikací s IF, 9 vystoupení na konferencích, 3 postery a 9 vyžádaných přednášek). Práce obsahuje úplný a přehledný seznam zkratk. Předložená práce je psaná v anglickém jazyce.

Charakteristika řešeného tématu

Téma disertační práce je vysoce aktuální jak z hlediska vědeckého zkoumání, tak z hlediska praktické využitelnosti při elektrochemické analýze klinicky významných antioxidantů – polyfenolů, vitamínu C a v tučných rozpustných vitamínech A a E. Tato aktuální problematika je využitelná při rychlých, levných a dostatečně citlivých aplikacích v oblasti potravinářského průmyslu a v oblasti zdravotnictví.

Naplnění stanoveného cíle

Cíl disertační práce lze považovat za velmi dobře splněný. Doktorand stanovené cíle nejen naplnil, ale také publikoval v odborných časopisech včetně časopisů s impaktovým faktorem. Proto také nejen obsahová část práce je na vysoké odborné úrovni. Závěry práce jsou přímo prakticky využitelné a otvírají možnosti dalšího rozvoje studované oblasti. Tato problematika však v práci není dostatečně zvýrazněna.

Postup řešení zvoleného tématu a konkrétní přínos studenta

Ke zvolenému postupu zpracování disertační práce nemám připomínky, považuji ho za metodologicky správný, v části teoretické i praktické vyvážený a logicky provázaný. Přínos doktoranda je možno spatřit ve velmi kvalitně zpracované teoretické části disertační práce a z toho vycházející správné orientaci doktoranda v řešené problematice a formulaci reálných cílů, které se mu podařilo naplnit.

Formální úprava a jazyková úroveň

Předložená disertační práce splňuje po formální stránce všechny požadavky kladené na práci tohoto typu. Je správně členěna, citace na použitou literaturu odpovídají normě ČSN ISO 690, rozsah a aktuálnost použitých literárních zdrojů je přiměřená. Rozsáhlý je také přehled vlastních publikací, 5 v časopisech s IF, 12 výstupů z konferencí, což svědčí o dobré publikační aktivitě doktoranda.

Navrhuji, aby při obhajobě disertační práce doktorand blíže vysvětlil své stanovisko k těmto otázkám:

- 1) Jaké rozdíly v kvalitě vámi připravených biosenzorů byly zjištěny, při aplikaci uhlíkových nanotrubic, nebo jen uhlíkové pasty. Jaké hlavní změny vlastností biosenzorů lze očekávat při aplikaci dalších možných nanomateriálů?
- 2) Dosažené výsledky vaší disertační práce rozšiřují možnosti rychlého a levného stanovení antioxidantů. Kde vidíte největší možnosti praktického uplatnění výsledků vaší práce, ve srovnání s ostatními analytickými metodami používanými při stanovení antioxidantů?
- 3) Jaké další otázky a problémy ve vztahu k tématu vaší disertační práce považujete za potřebné dále zkoumat, budete ve výzkumu tohoto tématu dále pokračovat?

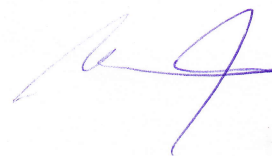
Závěr

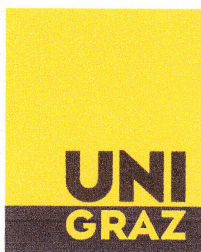
Konstatuji, že autor předložené doktorské disertační práce prokázal potřebnou schopnost a připravenost k samostatné vědecké a výzkumné práci ve studijním programu Analytická chemie, oboru Analytická chemie.

Vzhledem k výše uvedenému doporučuji přijetí práce k obhajobě a po úspěšném obhájení této práce udělení akademického titulu Ph.D.

V Brně dne 17. srpna 2015

doc. Ing. Josef Kellner, CSc.





Prof. Dr. Kurt Kalcher
Institute of Chemistry - Analytical Chemistry
Karl-Franzens-University
Stremayrgasse 16/III
A-8010 GRAZ
AUSTRIA



phone: +43 316 380 5310
fax +43 316 380 9845
email: kurt.kalcher@uni-graz.at

Ref.: Report on the dissertation "Carbon electrode materials in the analysis of vitamins with antioxidant properties" of Mr. Milan Sys (supervisor prof. Ing. Karel Vytras, DrSc.), Department of Analytical Chemistry, Faculty of Chemical Technology, University of Pardubice

The thesis under consideration comprises three focuses, namely (i) the determination of the phenolic antioxidant capacity (comparable to the Trolox equivalent antioxidant capacity, TEAC) in chapter 1, (ii) studies on the determination of ascorbic acid (chapter 2), and (iii) determination of lipophilic vitamins in chapter 3. A short introduction with the aims of the work makes the reader acquainted with the main problematics and targets, whereas conclusions accomplish the work.

Each of the main chapters contains a theoretical introduction, a detailed discussion on the obtained results, and corresponding references. The relevant publications for each chapter are added as appendices, also containing the experimental details of the practical approaches.

Chapter one gives a general overview on biosensors with respect to receptors and transducers (subchapter 1.1), explains the necessity and possibilities of immobilizing enzymes (subchapter 1.2), presents a classification of polyphenols (chapter 1.3), their influence on human health (1.4) and possibilities for their determination (1.5). Subchapter 1.6 concentrates on the actual topic and describes the development of tyrosinase-based biosensors with hydroquinone as a template analyte. Modifications with carbon nanotubes (CNT), correlations with Trolox using the 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical as oxidant and interference studies particularly with ascorbic acid were performed. The biosensors could be applied to the determination of phenolic antioxidants in wine and beer. The chapter is accompanied by four appendices (I to IV) representing four publications focusing on carbon-

paste tyrosinase biosensors showing the possibility to determine phenols in wines (appendix I), on carbon nanotubes-modified carbon paste electrodes (CPE, appendix II), on studies with Trolox with CPEs and CNT-modified CPEs and conclusions for tocopherol (vitamin E) determinations (appendix III), and on determinations of the phenolic antioxidative capacity in Moravian wines (appendix IV).

Chapter two describes electrochemical investigations on the determination of ascorbic acid (vitamin C). After general considerations on the analyte (subchapter 2.1) and its electrochemical determination (subchapter 2.2) studies on its determination with modified electrodes (2.3) and the effect of external influences (light, heat) are described. Many transition metal oxides, a few transition metals in the metallic state as well as tin and lead dioxide and multi-walled carbon nanotubes were investigated, from which many showed an improving effect though its extent was not very high compared to the unmodified CPE. Only CNTs produced a significant enhancement of the signal. Elimination attempts of phenolic interferences with the aid of laccase were not successful. The results were published in a conference report (appendix V). The degradation of ascorbic acid in orange juice was studied in order to assess external influences on its stability (subchapter 2.4, published in a conference report, appendix VI).

Chapter 3 investigates the possibilities of the electrochemical determination of lipophilic vitamins via their extraction to a heterogeneous carbon electrode. A basic overview on the lipophilic vitamins is presented (subchapter 3.1). In order to guarantee sufficient stability of the electrode material towards the analyte solution which needs to contain significant shares of organic solvents in order to dissolve or extract the corresponding vitamins glassy carbon powder was chosen (subchapter 3.2) in combination with silicone oil as the best pasting liquid (subchapter 3.3). Vitamin E (α -tocopherol) was used as a standard analyte and the method for its electrochemical determination was optimized (3.4) and applied to its quantification in margarine (3.5). Preliminary studies on the extraction of retinol into a glassy carbon paste electrode with paraffin oil as pasting liquid accomplish the core of the thesis (subchapter 3.6).

Assessment of the Work

- (i) The thesis is well presented; its outlay is clear and well understandable.
- (ii) The work represents a lot of new insights and new data on the research topics under consideration.
- (iii) The methodology is unambiguous and in many respects innovative.
- (iv) The discussion of the data is scientifically profound.

- (v) The thesis is accompanied and documented by many publications.
- (vi) The candidate has contributed significantly to the field of research, i.e., electrochemical sensors and biosensors for the determination of biologically important molecules with antioxidant properties. He has demonstrated his scientific research abilities by five publications in peer-reviewed journals (four of them as first author), nine conference papers (five of them with him as first author), seven lectures at national and international conferences, and three posters (two of them with him as first author).

Based on these considerations, **I recommend the thesis for public defense.**

Graz, 28.08.2015



Prof.Dr.Kurt Kalcher

Head of work group

„Electroanalysis and Sensorics“